ISTITUTO ANATOMO PATOLOGICO DELL' OSPEDALE MAGGIORE DI MILANO
DIRETTO DAL PROF. C. ZENONI

DOTT. ALFREDO MACCHI

LA SIEROREAZIONE DI WASSERMANN NELLE APPLICAZIONI ALLA CLINICA E ALL' ANATOMIA PATOLOGICA

« COMUNICAZIONE FATTA NELLA SEDUTA DEL 3 GENNAIO 1913 »





ESTRATTO DAGLI ATTI DELLA SOCIETÀ LOMBARDA DI SCIENZE MEDICHE E BIOLOGICHE
VOLUME II. FASCICOLO 2.

ISTITUTO ANATOMO PATOLOGICO DELL' OSPEDALE MAGGIORE DI MILANO
DIRETTO DAL PROF. C. ZENONI

DOTT. ALFREDO MACCHI

LA SIEROREAZIONE DI WASSERMANN NELLE APPLICAZIONI ALLA CLINICA E ALL' ANATOMIA PATOLOGICA

Senza entrare per ora nello studio della reazione proposta da Wassermann per la diagnosi dell' infezione luetica come fenomeno fisico chimico, piuttosto che come fenomeno biologico immunitario, mi limito a considerare l' importanza che la prova ha assunto nella pratica clinica e anatomo-patologica, e a rilevarne le più frequenti cause di errore.

La lunga serie di ricerche sul comportamento della W. R. in svariate malattie ha fatto rilevare che non soltanto nella sifilide lo siero acquista proprietà anticomplementari, ma tale contingenza può verificarsi anche in altre forme come la framboesia tropicale, la malattia del sonno, la lebbra, la malaria, la pellagra, la leucemia, la scarlattina e il tifo.

Se però l' insieme dei reperti sierodiagnostici positivi in taluni casi dove non è neppure sospettabile la forma luetica parve scuotere per un momento il valore scientifico e la specificità della reazione, lo studio accurato delle cause per cui si ottennero reperti contradditori ha fatto rilevare come la ragione principale dipenda dalle variazioni di tecnica apportate al metodo W. R. originale, specialmente

per quanto rigarda il dosaggio dei singoli componenti del sistema emolitico, e dal considerare secondo alcuni positive secondo altri negative le reazioni incomplete.

Uniformandosi ai criteri di tecnica quali furono stabiliti da Wassermann, e ripetendo eventualmente la prova con altro sistema emolitico quando la reazione non riesce o nettamente positiva o nettamente negativa, si rileva dalle ultime statistiche publicate che i reperti positivi nelle forme non luetiche sono eccezionali. Certo non si può escludere che alcune malattie possano conferire allo siero di sangue proprietà anticomplementari, come la frambroesia tropicale, la malattia del sonno, la lebbra, e che anche, secondo Scheidelmandel tali proprietà si possano verificare negli stati agonici o negli itteri.

Dato l' interesse della questione credo non inutile riferire brevemente sui reperti da me ottenuti nello scorso biennio in 252 prove; 239 osservazioni si riferiscono all' applicazione sierodiagnostica all' A.; solo in 13 casi mi sono servito di siero prelevato dal cadavere. La prova fu sempre praticata o perchè nei dati anamnestici del paziente figurava una pregressa forma luetica più o meno opportunamente e sufficientemente curata, oppure perchè l' eziologia della forma in atto era oscura, e l' anamnesi non poteva lasciare escludere con certezza una pregressa sifilide: al tavolo anatomico ho limitato il mio studio a quei casi che per lesioni arteriose imponenti localizzate ai grossi vasi specie all' aorta, o per lesioni scheletriche, si poteva pensare ad una pregressa lue. Come controllo ho praticata la reazione in 15 casi di Aa. di tifo, o di altre forme infettive acute nei quali e per i dati anamnestici e per il reperto obbiettivo potevo escludere con quasi sicurezza l' infezione celtica.

Attenendomi al metodo Wassermann originale ho ottenuto complessivamente nell' A. 50 reazioni positive (=21,3 %), 185 reazioni negative (=78,7 %) e 4 reazioni incerte (=1,7 %). Nelle forme infettive acute in soggetti clinicamente immuni da lues reperto sempre negativo.

Nel cadavere la percentuale delle reazioni positive supera quella dell' A. (=77 %).

Parallelamente alla reazione sul siero di sangue ho eseguita la prova di Wassermann in qualche caso sul liquido cefalo rachidiano o sul liquido pleurico o sopra altri essudati e trasudati dell' organismo. Per quanto riguarda il liquido cefalo rachid. non ho mai ottenuta una reazione spiccatamente positiva, pure usando come si consiglia dose doppia di liquido (0,20 — 0,40) mentre lo siero dello stesso A. dava luogo a inibizione completa dell' emolisi, e l' esame chimico citologico del liquido cefalo rachideo parlava per una compromissione del sistema nervoso (aumento della globulina ecc.).

Sopra 10 liquidi pleurici esaminati appartenenti ad individui nei quali la reazione sullo siero di sangue è stata negativa, e clinicamente affetti da pleurite essudativa di natura tubercolare, una sola volta la reazione è stata nettamente positiva. Indagando successivamente nell'anamnesi, rilevai che l' A. era stata contagiata molti anni prima di sifilide e curata con iniezioni di calomelano, e successivamente fino al giorno del suo ingresso all' Ospedale aveva fatto uso di preparati iodici per via ipodermica. Devo però far rilevare che in una seconda prova da me istituita più tardi, a più di un mese di distanza dall' ultima iniezione iodojodurata, la sieroreazione di Wassermann è stata positiva anche sul sangue.

Riguardo alle modificazioni e semplificazioni proposte

al metodo W. originale ho sperimentato quella di Stern per cui si utilizza il complemento contenuto nello siero in esame, che non deve per conseguenza essere inattivato. La variante sarebbe stata suggerita dalle vedute di Bail e Suzuki i quali ammettono che il complemento non agisce quantitativamente, ma avrebbe azione catalitica di fermento per cui l' alessina contenuta nello siero basterebbe a svelare la eventuale presenza di anticorpi sifilitici; ma in 3 sopra 5 casi di individui clinicamente immuni da lues e nei quali la W. originale era negativa la prova di Stern è riuscita positiva.

Anche il metodo Bauer per il quale si tralascia l' aggiunta dello siero emolitico, partendo dal principio che già nello siero normale sono contenuti ambocettori emolitici, non mi ha dato buoni risultati. Non ho provato il metodo Heckt che utilizzando contemporaneamente ambocettore e complemento normale dello siero in esame deve necessariamente accoppiare i difetti dei 2 metodi precedenti. Ho sperimentato invece in molti casi il metodo Dungern perchè più razionale e più comodo: utilizza come complemento siero di cavia disseccato, come ambocettore siero di capra emolitico per le emazie umane e come globuli rossi usufruisce di quelli contenuti nel sangue defibrinato del soggetto da esaminare. Ma praticamente in più di 20 esperienze non ho ottenuti risultati netti nè concordi col metodo W. originale. L' ambocettore e il complemento devono essere usati freschi; essicati possono perdere completamente la loro attività.

Accenno qui di sfuggita all' importanza che può avere la cura nel variare il reperto sierodiagnostico. Alcuni medicamenti introdotti nell' organismo o per bocca o per via

ipodermica modificano in parecchi casi il risultato della W. rendendolo negativo. Primo fra tutti è il mercurio che agendo elettivamente sul treponema deve di conseguenza indurre particolari modificazioni dello siero e influenzare la W. R. in tutti e tre gli stadi, specie nel 1° e nel 2°. Però devo osservare che la reazione negativa può comparire già 1-2 giorni dopo una sola iniezione di calomelano, e che oltre al mercurio, la lecitina, l' iodio, l' arsenico, il chinino, il ferro, e il guaiacolo possono in qualche caso rendere negativa, però transitoriamente, la reazione di W. che prima dell' inizio della cura era risultata positiva.

Non si può altrimenti spiegare il fatto se non ammettendo una azione dissolvente o inibente sulle reagine (Citron) contenute nei sieri, anzicche un azione elettiva del farmaco sul processo luetico.

Sopra 6 casi di Aa. in corso di cura iodica nei quali la W. risultava durante la cura negativa, la reazione ripetuta molti giorni dopo il trattamento iodico risultò invece 2 volte positiva.

Il motivo principale che mi ha indotto a comunicare questa nota, e a riportare una statistica che approssimativamente è comparabile alle molte già pubblicate fu quella di richiamare l' attenzione su cause di errore inerenti non tanto a processi di tecnica nell' esecuzione della reazione, ma a condizioni particolari nelle quali può trovarsi il siero di sangue.

Avendo io usato come controllo del sistema emolitico per il siero sano sieri che in esami precedenti mi avevano data reazione negativa e per quello sifilitico sieri che precedentemente avevo trovati positivi, raccolti sempre asetticamente ma forse in qualche caso non conservati colle stesse precauzioni di asepsi, ebbi a notare più di una volta

che uno stesso siero, che qualche settimana prima mi aveva data emolisi completa, poteva invece perdere questa proprietà e inibire il processo dell' emolisi nel medesimo grado del siero sifilitico. Ne potei sospettare di esser incorso in un errore di tecnica, per quanto ciò sia facile a verificarsi quando per comodità di tempo si istituiscono contemporaneamente prove su 4-5 sieri diversi onde usufruire dello stesso sistema emolitico, perchè l' identico fatto ebbe a ripetersi più di una volta.

Bisognava per tanto ritenere che il siero conservato a lungo inattivato subisse tali modificazioni di ordine fisico o chimico da potere annullare l' azione del complemento e quindi inibire l' emolisi.

Sfogliando la letteratura trovai che ciò non era nuovo ; già Friedemann aveva constatato che sieri appartenenti ad individui normali, ma non freschi o comunque alterati potevano inibire l' emolisi anche in modo talvolta completo.

Eseguii quindi alcune prove seguendo questo indirizzo usando sangue di individui immuni da lues nei quali la Wassermann in antecedenza era riuscita negativa ; separato il siero ne esposi parte all' aria a temperatura ambiente per molte ore fino a intorbidamento, parte invece inquinai aggiungendovi un' ansa di cultura o di stafilococco o di v. colerico o di b. di Eberth o di b. coli.

Dopo 24-48 ore mi servii di questi sieri per la prova di W.

Per tutti i sieri putrefatti ebbi netta la inibizione dell' emolisi mentre invece per quelli inquinati con culture pure ottenni in molti ma non in tutti la inibizione completa.

La diversità di comportamento non mi risultò però inerente a questo o a quel germe seminato ma in rapporto coll' uno piuttosto che coll' altro siero ; e potei anzi con-

statare che i campioni di sieri che davano inalterata l' emolisi erano rimasti sterili non ostante avessi seminato in tutti gli stessi germi tolti dalla medesima cultura, mentre negli altri ottenevo sempre lo sviluppo più o meno abbondante del germe infettante.

Non si può altrimenti interpretare il fatto che ammettendo una azione anticomplementare di certi prodotti batterici sul siero in esame. Certo il fenomeno non si riscontra con tutti i sieri nè per tutti gli stipiti di uno stesso microrganismo, qualche volta anzi i medesimi agenti biologici si mostrano dotati di alto potere emolitico.

La questione è di grande valore dal punto di vista pratico ; se del sangue dell' ammalato possiamo quasi sempre ottenere siero limpido e sterile, non altrettanto può avvenire sul cadavere. Per quanto nei pochi casi occorsi alla mia osservazione il reperto positivo della prova di Wassermann abbia quasi sempre confermati dati probativi anzi quasi certi di una pregressa infezione luetica, non escludo che moltiplicandosi le prove si possano ottenere reperti erronei se non si ha cura di procedere con tutte le cautele sia nella raccolta e conservazione dello siero, sia nella preparazione e dosaggio di ogni singolo componente del sistema emolitico.

Riepilogando posso desumere dalle mie esperienze che la sieroreazione proposta da Wassermann per la diagnosi della sifilide, investigata nel suo valore clinico e anatomo patologico, quando sia condotta con tecnica rigorosa ha la stessa importanza semeiologica degli altri metodi di laboratorio, i cui risultati presi isolatamente non permettono di formulare una diagnosi precisa, mentre invece complessivamente costituiscono un ottimo sussidio per la clinica ; ma non posso escludere che in via eccezionale altri fattori

che facilmente sfuggono alle nostre indagini, e costituiti in parte da sostanze introdotte nell' organismo a scopo terapeutico, in parte da prodotti di ricambio dei germi patogeni possano influenzare la reazione biologica specifica alterandone, sia pure temporaneamente, i risultati in uno o nell' altro senso. Per cui si deve attribuire grande importanza ad una reazione positiva tanto al letto dell' A. quanto al tavolo anatomico quando però sia eseguita con siero quanto più possibilmente fresco e limpido, subito inattivato e del quale ne sia controllata la sterilità con indagini batteriologiche.

Le reazioni deboli e ambigue hanno valore diagnostico in quanto trovano appoggio nell' anamnesi o nell' esame clinico del soggetto.

La reazione negativa non esclude in modo certo la lue.

La reazione eseguita sul liquido cefalo rachidiano o su altri essudati e trasudati dell' organismo, da una percentuale molto inferiore di risultati positivi in confronto della reazione sul siero anche nei casi di lesioni sifilitiche in atto.

Le modificazioni e semplificazioni introdotte alla tecnica Wassermann originale non danno risultati pratici attendibili.

PAVIA PREMIATA TIPOGRAFIA SUCCESSORI FRATELLI FUSI 1913